

## 1285 株痢疾杆菌的檢定\*\*

程知义 周佳敏 鍾文蓬

痢疾杆菌的分型工作至为重要,它不仅能帮助流行病学工作者进行傳染源的追踪,而且还为微生物学工作者提供特异性免疫的参考。我国杆菌性痢疾对人民健康的危害甚为普遍而严重。但,痢疾病原菌中究竟以那些菌型最为常見,則頗不了解。虽然,曾先后有楊永年<sup>[1]</sup>、欧陽旭明<sup>[2]</sup>、上海巴斯德研究院<sup>[3]</sup>、王景堯和晏賢<sup>[4]</sup>、何觀清<sup>[5]</sup>以及司穉东等<sup>[6]</sup>的报告,惟均由于当时诊断技术或条件所限,仅涉及初步分群工作,其中尤以福氏痢疾杆菌,因抗原構造比較复杂,未能作到进一步的分型。

本文乃就作者等于 1954 年以来所檢定之 1285 株痢疾杆菌,根据其生化反应及血清学特性进行之分析并加討論。

### 菌种来源

菌种系 1953—1955 年間在下列地区自痢疾患者或帶菌者体中分离。

南京地区	509 株
苏州地区	332 株
上海地区	15 株
其他地区	429 株
共 計	1285 株

### 檢定程序与方法

所有送檢之菌种均以划綫法移种于中国藍、远藤或伊紅美藍培养基上,經 37°C 培养 24 小时后,选择典型之病原菌菌落,移种于蛋白胨水和琼膠斜面,复放 37°C 培养 18—24 小时。以蛋白胨水中之培养物作动力檢查和革蘭氏染色;如無动力,則用以接种各糖醱酵管,包括葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇、蔗糖、阿拉伯膠糖、衛矛醇、鼠李糖、山梨醇、木膠糖、福寿草醇、肌醇、水楊素以及醋酸鉛和 Simmons 氏枸橼酸鹽培养基。明膠仅有部分菌株使用。各培养基均放在 37°C 每日观察,糖醱酵共观察 15 日。宋內

\* 1956 年 5 月 22 日收到。

\*\* 参加这一工作的尚有郑鏡洲和張岩二同志。

氏痢疾杆菌的乳糖醱酵管則观察至 30 日。醋酸鉛和 Simmons 氏枸橼酸鹽反应观察 4 日。明膠則于 20°C 观察 15 日。蛋白胨水培养物則以 Ehrlich-Bohme 氏試剂測定凝基質之形成与否。根据上述生化反应之初步結果，以琼膠斜面上之培养物进行玻片凝集試驗。

所用糖醱酵管均以 1% 蛋白胨水为基础，各加入 1% 之碳水化合物，以溴麝香草酚藍为指示剂，pH 为 7.2。葡萄糖和甘露醇管中各置有一小倒管，以观察气体之产生。所有糖醱酵管，除阿拉伯膠糖和木膠糖因遇热易分解而用滅菌器灭菌外，均以 10 磅压力加热 10 分鐘灭菌。

檢定用之痢疾菌屬血清包括：葛-志賀氏菌血清、史-舒氏菌血清、拉-薩氏菌群：Q454, Q771, Q902, Q1030 和 Q1167 血清、多价福氏菌血清、單价福氏菌型因子血清<sup>[1]</sup>，I, II, III, IV, V 和 VI、福氏菌群因子血清：3, 4, 6 和 7 (最后阶段始增用)；鮑氏菌群：1, 2, 3, 4, 5, 6 和 7 各型血清<sup>[2]</sup>；以及宋內氏菌血清共計 26 种。此外并輔之以驗痢杆菌和殊异杆菌血清。所有血清均經适当稀釋用作玻片凝集反应。

## 結 果

所檢定之 1285 株痢疾杆菌在形态上均为革蘭氏陰性，無荚膜，無芽孢，沒有动力之杆菌。今就各菌之生化反应和血清学分型結果分別記述如后：

生化反应結果：1285 株痢疾杆菌在生化反应上除新城型能产生少量气体外，均醱酵葡萄糖产酸不产气。均不分解福寿草醇，肌醇和水楊素 (个别例外)；除宋內氏痢疾杆菌于長時間培养后能分解乳糖外，均不醱酵乳糖。各菌均不液化明膠，亦不产生硫化氢；于枸橼酸鹽琼膠上均不生長。基本上与国际微生物学会腸道菌委员会志賀氏菌屬小組委员会所描述者相符合<sup>[3]</sup>。詳細結果列于表 1。

葛-志賀氏痢疾杆菌：7 株，全部于 24 小时內醱酵葡萄糖产酸不产气。其余各碳水化合物經 15 日之培养均呈陰性。凝基質、明膠和枸橼酸鹽亦均呈陰性反应。

史-舒氏痢疾杆菌，38 株，全部于 24 小时內分解葡萄糖，产酸不产气。35 株于 24 小时內醱酵鼠李糖，另有 3 株于 2—3 日始行分解鼠李糖。麦芽糖陰性者 32 株，11—14 日醱酵者 6 株。阿拉伯膠糖陰性者 34 株，5—14 日醱酵者 3 株，24 小时內即醱酵者仅 1 株。山梨醇陰性者 30 株，1—11 日醱酵者 8 株。38 株史-舒氏痢疾杆菌仅有 1 株于第 13 日醱酵木膠糖，余者均为陰性。

福氏痢疾菌群

第 1 型：56 株，全部于 24 小时內醱酵葡萄糖。醱酵甘露醇者有 54 株，2 株不分解

甘露醇。麦芽糖陰性者 42 株, 1—14 日內醱酵者 14 株。蔗糖陰性者 47 株, 4—13 日內醱酵者 9 株。1—5 日內醱酵阿拉伯膠糖者 45 株, 不分解者 11 株。絕大部分之第 1 型福氏痢疾杆菌不分解鼠李糖和山梨醇, 但于 56 株菌中有 1 株于第 5 日醱酵鼠李糖, 而有 3 株于 24 小时內醱酵山梨醇。除 1 株为凝基質陽性外, 其余均为陰性。

第 2 型: 523 株。絕大部分之第 2 型菌均于 24 小时內醱酵葡萄糖, 然有 4 株于 48 小时始醱酵。于 24 小时內醱酵甘露醇者有 518 株, 于 48—72 小时內分解者有 5 株。于 1—15 日內醱酵麦芽糖者有 284 株, 其余均不分解。絕大部分菌株均不分解蔗糖, 惟有 2 株于 24 小时內醱酵此糖, 其中有 1 株于半年內移种 2 次后复查时变为晚醱酵者, 6 株于 5—14 日內分解。于 1—15 日內醱酵阿拉伯膠糖者有 469 株, 不分解者有 54 株。大多数之第 2 型福氏痢疾杆菌均不分解鼠李糖、山梨醇和木膠糖, 523 株菌中發現于 2—12 日內醱酵鼠李糖者有 15 株, 1—4 日內醱酵山梨醇者 13 株, 于 24 小时內醱酵木膠糖者 2 株。凝基質一般均为陰性反应, 陽性者 9 株。檢定之第 2 型菌中有一株于 24 小时內同时分解鼠李糖、山梨醇和木膠糖, 并于第 4 日分解水楊素。

第 3 型: 377 株。除 2 株于 48 小时內醱酵葡萄糖外, 其余各菌均于 24 小时內分解該糖。除 6 株于 48 小时內醱酵甘露醇外, 其余各菌均于 24 小时內分解。麦芽糖陰性者有 324 株, 24 小时內醱酵者 34 株, 于 4—15 日內分解者 19 株。蔗糖陰性者有 312 株, 3—15 日內醱酵者有 64 株, 于 24 小时內即行分解者 1 株。于 1—14 日內醱酵阿拉伯膠糖者有 345 株, 不分解者 32 株。大多数之第 3 型菌均能醱酵鼠李糖, 为本型菌之特点, 1—12 日內醱酵此糖者有 334 株, 不分解者有 43 株。于 1—2 日內醱酵山梨醇者有 305 株, 不分解者有 72 株。377 株第 3 型菌中凝基質陽性者有 23 株。另有 1 株于第 9 日分解水楊素。

第 4 型: 50 株。其特点是: 甘露醇陰性, 木膠糖陽性和凝基質陽性菌株較多。50 株中有 30 株甘露醇陰性, 16 株木膠糖陽性(1—12 日內分解), 和 41 株为凝基質陽性。全部均于 24 小时內醱酵葡萄糖。于 1—14 日內醱酵麦芽糖者 45 株, 于 11—14 日內醱酵蔗糖者 4 株, 1—13 日內醱酵阿拉伯膠糖者有 45 株, 1—4 日內醱酵鼠李糖者有 25 株, 以及 1—12 日內醱酵山梨醇者 37 株。

第 5 型: 52 株。除 2 株于 48 小时內醱酵葡萄糖外, 其余均于 24 小时內分解此糖。甘露醇除有 6 株于 2—5 日內醱酵外, 其余均于 24 小时內分解。不分解麦芽糖者有 44 株, 24 小时分解者 1 株, 9—15 日內分解者 7 株。蔗糖于 24 小时內即呈陽性反应者 1 株, 該菌株于半年后复查时已失去此特性而变为晚醱酵者, 6—14 日陽性者 23 株, 其余均屬陰性。阿拉伯膠糖 1—5 日內陽性者 43 株, 其余均屬陰性。大多数之第 5 型菌为鼠李糖陰性, 52 株中仅有 3 株于 3—9 日內分解此糖。全部第 5 型菌凝基質均呈陰性



反应。

第 6 型: 共檢定 28 株, 其中 10 株屬鮑氏 88 型。全部分解葡萄糖和甘露醇, 其中有一株于第 4 日始分解甘露醇。麦芽糖 12—14 日內醱酵者 8 株, 不分解者 2 株。阿拉伯膠糖均于 2—14 日內分解; 其他糖类均为陰性。靛基質亦全部呈陰性反应。

屬于新城型者 18 株, 全部于 24 小时內分解葡萄糖, 除 2 株外均产有小气泡。甘露醇呈陰性反应。麦芽糖于 7—14 日內醱酵者 7 株, 24 小时內醱酵者 1 株, 其余均不分解。阿拉伯膠糖均于 24 小时內呈陽性反应, 衛矛醇以及其他醱类均为陰性。靛基質亦为陰性。

Y 型变种: 19 株。全部于 24 小时內醱酵葡萄糖。除 1 株外均能醱酵甘露醇, 其中有 3 株于第 2—4 日始行分解。麦芽糖于 11—14 日內分解者 6 株, 其余均不分解。于 1—7 日內醱酵阿拉伯膠糖者 16 株, 其余均为陰性。其他糖类和靛基質均呈陰性反应。

#### 鮑氏痢疾菌群

第 1 型: 共檢定 3 株。葡萄糖、甘露醇和阿拉伯膠糖均呈陽性反应。麦芽糖陰性者 2 株, 于第 14 日呈陽性反应者 1 株。1—2 日分解山梨醇者 2 株, 陰性者 1 株。不醱酵木膠糖者 2 株, 另 1 株于第 9 日分解之。其他糖类及靛基質均为陰性。

第 5 型: 1 株。醱酵葡萄糖, 甘露醇和阿拉伯膠糖; 于 48 小时分解木膠糖; 靛基質陽性。其他醱类均为陰性。

宋內氏痢疾杆菌: 共檢定 78 株。全部醱酵葡萄糖、甘露醇和阿拉伯膠糖。24 小时內分解麦芽糖者 72 株, 3—12 日內分解者 3 株, 陰性者 3 株。78 株宋內氏菌中于 6—15 日分解乳糖者 70 株, 48 小时者 1 株, 陰性者 7 株, 其中 5 株經观察 30 日仍为陰性。于 5—15 日內分解蔗糖者 37 株, 其余均为陰性。大部分菌株均于 1—4 日內分解鼠李糖, 不分解者仅 3 株。除 9 株外, 大部菌株均不分解山梨醇, 9 株陽性菌株中有 1 株于第 10 日始呈陽性反应。全部宋內氏痢疾菌均不形成靛基質。

血清学之分型: 1285 株痢疾杆菌的血清学檢定結果見表 2。

未能予以定型之菌 58 株, 占总数之 4.12%。其中包括有能与多价福氏菌血清凝集, 而不与任何型因子血清作用, 其群抗原与 X 或 Y 变种又不尽相同之菌多株; 以及一些在生化反应与典型之痢疾杆菌無別, 而与所用各血清均不凝集的菌株。这些菌株有待繼續研究, 結果另文报告。

表2 1285株痢疾杆菌之血清学分型

血清学型别	株数	百分率 (%)
葛-志賀氏痢疾杆菌	7	0.55
史-舒氏痢疾杆菌	38	2.96
福氏痢疾杆菌		
1型(V)	56	4.36
2型(W)	523	40.62
3型(Z)	377	29.34
4型(103)	50	3.90
5型(P119)	52	4.05
6型(88)	10	0.78
(新城型)	18	1.40
Y型变种	19	1.48
鮑氏痢疾杆菌		
1型(170)	3	0.23
5型(P143)	1	0.08
宋内氏痢疾杆菌	78	6.07
未定型菌	53	4.12
总計	1285	

## 討 論

早年很多学者如 Lentz 氏(1902)、Hiss 氏和 Russel 氏(1903)、Hiss 氏(1904)等企圖以生化特性为依据来鑒別痢疾菌屬。不久, Flexner 氏(1904)、Weaver 氏等(1905)、Ohno 氏(1906)、Kruse 氏等(1907)等先后發現痢疾菌的生化反应变化無常,其中尤以福氏菌群为然,因此很难用为分类基础,乃倡用血清学方法予以分类。但当时由于福氏菌抗原的錯綜复杂,使血清学檢定遭受一定的困难。近年来,經過很多学者的研究,使痢疾菌屬中各菌株間的关系得以闡明;由于高度特异性因子血清的实际应用,既簡化了痢疾菌屬的診斷,更便利了流行病学工作者对于痢疾傳染源的追踪。本文 1285 株痢疾菌的檢定結果充分証明,痢疾杆菌的生化反应是不恒定的,而且是变化多端的,其中以福氏痢疾菌群的各菌株表现尤为明显;所以單憑生化反应結果作为痢疾菌屬檢定之依据是不可憑信的。我們願強調指出,根据生化反应結果,繼用高度特异性的因子血清作玻片凝集試驗予以定型,能使痢疾菌型的診斷簡化、迅速而正确。

关于甘露醇陰性变种的福氏痢疾杆菌,文献中屢有述及。最早被描述者当推福氏痢疾杆菌第 4 型。它們曾先后由不同学者称之为西貢杆菌 *Saigon bacillus*、范登保氏杆菌 *Von den Bosch bacillus*、西貢志賀氏菌 *Sh. saigonensis*、拉保尔志賀氏菌 *Sh.*

*rabaulensis*<sup>[9]</sup>和里奥志賀氏菌 *Sh. rio*<sup>[10]</sup>等名。随后,又發現 Clayton 氏和 Warren 氏<sup>[11]</sup>所描述之新城型杆菌亦屬甘露醇陰性变种。1954 年 Ewing 氏<sup>[12]</sup>报告福氏痢疾杆菌中除 4a 型和新城型外, 1b、2a 和 3 等型中均有甘露醇陰性变种之發現。作者等所檢定之 1105 株福氏痢疾杆菌中, 共發現甘露醇陰性变种 51 株, 其中第 4 型 30 株, 新城型 18 株, 1 型 2 株和 Y 型变种 1 株。这 30 株 4 型菌之生化反应基本上与拉保尔志賀氏菌者相符<sup>[9]</sup>。因此, 于痢疾菌屬診斷中, 若遇有甘露醇陰性菌株, 不与葛一志賀氏菌或史-舒氏杆菌血清凝集时, 应即考虑其是否属于福氏痢疾菌群而以福氏多价血清测定之。

在这 1105 株福氏痢疾杆菌中發現有 4 株 (2 型 2 株, 3 型和 5 型各 1 株) 于 24 小时内即分解蔗糖, 其中有 2 株于半年后复查时, 此一特性即已消失。据 Topley 和 Wilson 二氏报告<sup>[8]</sup>福氏痢疾菌只有經多次移种接代后始克于 24 小时分解蔗糖, 但从不会发生于初次分离时。而 Рубамкина 氏<sup>[13]</sup> Караева 氏<sup>[14]</sup>等苏联学者發現, 在人体中与大肠菌杂居一处的痢疾菌可能因营养杂交而获得大肠菌的特性, 这种伪装菌經在人工培养基上移种数次后, 即可解除伪装而恢复其原有的性状。前述菌株是否于初次分离时即分解蔗糖經傳代后失去此一特性, 抑或于初次分离时为陰性經移种多次而轉呈陽性, 惜因这些菌株的原始材料不全, 未能作进一步之研究。

宋内氏痢疾杆菌一向是被公認为准一醱酵乳糖的痢疾杆菌, 一般恒在培养 2—10 日<sup>[8]</sup>或 4—14 日內<sup>[13]</sup>分解乳糖产酸。作者等于 78 株宋内氏痢疾杆菌中發現有 5 株經 30 日培养仍不分解乳糖。此等乳糖陰性变种的宋内氏痢疾杆菌, 1952 年 Rubinsten 氏和 Piechaud 氏<sup>[14]</sup>亦曾有所描述。

根据 Madsen 氏<sup>[9]</sup>之报告, 除拉保尔杆菌和里奥志賀氏菌于第 1—7 天醱酵木膠糖外, 其余各型痢疾杆菌均不分解此糖。作者等發現有二株第 2 型福氏杆菌能于 24 小时内醱酵木膠糖。16 株于 1—12 日內分解木膠糖的第 4 型菌株, 除一株同时分解甘露醇外, 其余均为屬甘露醇陰性的拉保尔型菌株。

值得注意的是, 按 1953 年国际微生物学会国际腸道菌委员会志賀氏菌屬小組委员会<sup>[15]</sup>提出的关于志賀氏菌屬之定义, 痢疾菌屬是不分解水楊素的。然而在檢定之 1105 株福氏痢疾杆菌中有 3 株水楊素晚醱酵的变种: 第 2 型、第 3 型和第 4 型各一株; 它們分別于第 4、第 9 和第 8 日分解此糖。此等异常反应虽經重复檢查亦無改变。

Boyd 氏<sup>[16]</sup>曾报告于 Boyd 88 型菌中約有 33% 系衛矛醇陰性, 其余 66% 的菌株为衛矛醇陽性; 同时 Clayton 氏和 Warren 氏<sup>[11]</sup>称新城型菌株对衛矛醇的醱酵作用可为陰性或晚醱酵。而本文所描述之 10 株 Boyd 88 型和 18 株新城型則均为不分解衛矛

醇者。

檢定結果还指出：菌株的某些生化特性和某些血清学型別之間的相互关系。靛基質反应于葛-志賀氏痢疾杆菌、福氏痢疾杆菌 5 型和 6 型，以及宋內氏痢疾杆菌中均呈陰性；而于史-舒氏痢疾杆菌中則为陽性。醱酵鼠李糖和山梨醇的特性則与福氏痢疾杆菌第 3 型有关。于 377 株第 3 型菌中分解鼠李糖和山梨醇的菌株各占 89% 和 80% 之多。

麦芽糖和阿拉伯膠糖的醱酵作用，極不恒定故在檢定痢疾菌屬的菌株中無鑒別价值。

## 总 結

1. 1285 株痢疾杆菌的血清学檢定結果：葛-志賀氏杆菌占 0.55%；史-舒氏杆菌，2.96%；福氏杆菌：第 1 型，4.36%，第 2 型，40.62%，第 3 型，29.34%，第 4 型，3.90%，第 5 型，4.05%，第 6 型；鮑氏 88 型，0.78%，新城型，1.40%，和 Y 型变种，1.48%，合为 85.93%；鮑氏杆菌：第 1 型，0.23%，和第 5 型，0.08%，合为 0.31%；以及宋內氏杆菌，6.07%；未定型菌占 4.12%。

2. 对所檢定各菌株之生化反应作有較詳細之描述和討論。

3. 根据生化反应結果的不恒定性和它在痢疾菌屬檢定中的不可靠性，作者等強調应用高度特异性因子血清在檢定痢疾菌种中的价值。

## 参 考 文 献

- [1] 楊永年：中华医学杂志，21:1256, 1935。
- [2] 歐陽旭明：Chinese Med. J., 58: 456, 1940。
- [3] 上海巴斯德研究院年報，1949。
- [4] 王景堯和晏賢：防治医学，1:42, 1951。
- [5] 何現清：中华衛生杂志 3:241, 1955。
- [6] 司藤东等：中华医学杂志，41:835, 1955。
- [7] 周佳敏：志賀氏菌屬因子血清的試制及其实际应用，未發表。
- [8] Topley: Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, 3rd ed. 1947.
- [9] Madsen, S.: On the Classification of the Shigella Types, 1949.
- [10] Weil, A. J., A. de Assis, & H. Slatkovsky: J. Immunol. 58: 23, 1948.
- [11] Clayton, F. H. A. & Warren, S. H.: J. Hyg. 28: 355, 1929.
- [12] Ewing, W. H.: J. Immunol. 72: 404, 1954.
- [13] Weil, A. J. & Saphra, I.: Salmonella and Shigella, 1953.
- [14] Rubinsten, S. & Piechaud, D.: Ann. Inst. Pasteur, 82: 770, 1952.
- [15] Kauffmann, F.: Enterobacteriaceae, 1954.

- [16] Boyd, J. S. K.: *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, **33**: 553, 1940.  
 [17] Рубамкина, Б. К.: *Ж. М. Э. Н.* **3**: 31, 1955.  
 [18] Караева, Л. Т., Аганилашвили, Н. Л.: *微生物学譯报* **2**: 113, 1955.

## IDENTIFICATION OF 1285 STRAINS OF LOCALLY ISOLATED SHIGELLA

CHENG CHIH-I, CHOU CHIA-MING, AND CHUNG WEN-FUNG

While bacillary dysentery is a fairly common disease in certain parts of the country, and while preliminary grouping of the isolated organisms have been occasionally reported from time to time, so far, no detailed study of the finer classification of the organisms is easily available to the bacteriological workers. We have recently completed such a study including a careful biochemical and serological study of most of the 1285 strains isolated in and near Shanghai. The results are as follows:

Serological types	No. isolated	%
<i>Shigella dysenteriae</i>	7	0.55
<i>Shigella schmitzi</i>	38	2.96
<i>Shigella flexneri</i>		
Type 1 (V)	56	4.36
Type 2 (W)	523	40.62
Type 3 (Z)	377	29.34
Type 4 (103)	50	3.90
Type 5 (P119)	52	4.05
Type 6 ( 88)	10	0.78
[Newcastle]	18	1.40
Variant Y	19	1.48
<i>Shigella boydii</i>		
Type 1 (170)	3	0.23
Type 5 (P143)	1	0.08
<i>Shigella sonnei</i>	78	6.07
Unidentified	53	4.12
Total	1285	

Finally, from the experience obtained in identifying the types of the present series, the importance of serological diagnosis again is to be stressed.